DISTRIBUTION DES SPORES DE BACILLUS THURINGIENSIS EN EAU COURANTE

Québec

Distribution des spores de Bacillus thuringiensis en eau courante (Pub. n° 85)

Par

Renaud Dostie, Sylvie Delisle et Pierre-Martin Marotte

SUMMARY

In 1986, the ministère de l'Énergie et des Ressources du Québec (M.E.R.) did the environmental monitoring of aerial spraying against spruce budworm. The M.E.R. especially studied the behaviour of Bacillus thuringiensis var. kurstaki (B.T.K.) in running waters. Sampling was done directly after spraying (20 to 120 min.) in four streams located inside the treated areas. This project aimed at evaluating the spatial and temporal distribution of B.T.K. spores in water sampled at the surface of streams. We also wanted to verify the validity of the M.E.R. sampling method. A total of 108 samples were collected for the project.

The spatial distribution study consisted in simultaneously collecting four bottles of water all the way across each stream. Results showed the representativeness (T of Wilcoxon) of the bottle sampled in the center of the stream in comparison with the three others which contents was globally analyzed. For the temporal distribution study, five bottles of water were successively collected within a four-minute period. The statistic analysis proved that the B.T.K. concentration observed in the third bottle of the sequence was representative of the four-other-bottle mixture.

The results showed a quick and homogeneous dispersal of B.T.K. spores at the surface of streams exposed to aerial spraying. The sampling method - that is the collection of a single bottle of water in the center of a stream - thus proved to be appropriate for evaluating B.T.K. spore presence.

Gouvernement du Québec
Ministère de l'Énergie et des Ressources
Service des études environnementales

DISTRIBUTION DES SPORES DE BACILLUS THURINGIENSIS EN EAU COURANTE

Renaud Dostie, tech. de la faune
Sylvie Delisle, tech. de la faune
Pierre-Martin Marotte, biol.

Service des études environnementales

Gouvernement du Québec
Ministère de l'Énergie et des Ressources
Direction de la conservation

CHARLESBOURG, NOVEMBRE 1988

85

©Gouvernement du Québec
Dépôt légal - 4e trimestre 1988
Bibliothèque nationale du Québec
ISBN 2-550-19349-0
No de publication 3375

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à souligner le travail du personnel oeuvrant au ministère de l'Énergie et des Ressources qui a participé à la réalisation de cette étude. Nous remercions particulièrement les personnes suivantes:

- M. Bruno Boulet pour sa collaboration au protocole d'échantillonnage et à l'analyse statistique;

- MM. Guy Parent et Jacques Bergeron pour la réalisation des figures apparaissant dans ce rapport;

- Mme Céline Blanchet qui, sous la supervision de Mme Pierrette Cardinal, a effectué les analyses en laboratoire;

- Mme Marie-France Bérubé pour la préparation et la dactylographie de ce document.

- ainsi que M. Gilles Gaboury pour la révision détaillée de ce rapport.

SOMMAIRE

En 1986, le ministère de l'Énergie et des Ressources du Québec (M.E.R.) a effectué un suivi environnemental des pulvérisations aériennes contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette. Lors de ce suivi, le Ministère a étudié le comportement du Bacillus thuringiensis var. kurstaki (B.t.k.) en eau courante. L'échantillonnage réalisé immédiatement après les pulvérisations (de 20 à 120 min.) s'est déroulé dans quatre cours d'eau situés à l'intérieur des secteurs traités. L'objectif de cette étude était d'évaluer la distribution spatiale et temporelle des spores de B.t.k. dans l'eau prélevée en surface des ruisseaux. On voulait aussi vérifier la validité de la méthodologie d'échantillonnage utilisée par le M.E.R.. En tout, 108 échantillons ont été récoltés pour réaliser ce projet.

L'échantillonnage pour la distribution spatiale comprenait une récolte simultanée de quatre bouteilles d'eau réparties sur toute la largeur d'un ruisseau. Les résultats démontrent la représentativité (T de Wilcoxon) de la bouteille prélevée au centre du cours d'eau, par rapport aux trois autres dont le contenu a été analysé globalement. Pour l'étude sur la distribution temporelle, cinq bouteilles d'eau étaient récoltées successivement au cours d'une séquence de quatre minutes. L'analyse statistique des échantillons révèle que la concentration de B.t.k. observée dans la troisième bouteille de la séquence est représentative de celle provenant du mélange des quatre autres.

L'ensemble des résultats démontrent une dispersion rapide et homogène des spores de B.t.k. à la surface de cours d'eau exposés aux pulvérisations aériennes. La méthodologie d'échantillonnage, qui consiste en la récolte d'une seule bouteille d'eau au centre d'un ruisseau, s'avère adéquate pour évaluer la présence des spores de B.t.k..

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS ii

SOMMAIRE iii

TABLE DES MATIÈRES iv

LISTE DES TABLEAUX v

LISTE DES FIGURES v

INTRODUCTION 1

1. PROGRAMME DE PULVÉRISATIONS 2

2. PROGRAMME D'ÉCHANTILLONNAGE 4

3. MÉTHODOLOGIE D'ÉCHANTILLONNAGE 5

3.1 Distribution spatiale 5
3.2 Distribution temporelle 6

4. MÉTHODOLOGIE D'ANALYSE 7

5. RÉSULTATS ET DISCUSSION 8

5.1 Distribution spatiale 8
5.2 Distribution temporelle 11

CONCLUSION 14

BIBLIOGRAPHIE 15

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Distribution spatiale du B.t.k. (U.F.C. x 10^4/ℓ) dans l'eau de ruisseaux exposés aux pulvérisations en 1986 9

Tableau 2. Distribution temporelle du B.t.k. (U.F.C. x 10^4/ℓ) dans l'eau de ruisseaux exposés aux pulvérisations en 1986 12

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Programme de pulvérisations de 1986 réalisé en Mauricie et stations échantillonnées en eau courante 3

Figure 2. Récolte de quatre bouteilles d'eau fixées sur un support 5

Figure 3. Distribution spatiale du B.t.k. dans l'eau de ruisseaux exposés aux pulvérisations en 1986 10

Figure 4. Distribution temporelle du B.t.k. dans l'eau de ruisseaux exposés aux pulvérisations en 1986 13

INTRODUCTION

Le ministère de l'Énergie et des Ressources du Québec (M.E.R.) utilise depuis quelques années l'insecticide biologique Bacillus thuringiensis var. kurstaki (B.t.k.) pour remplacer les insecticides chimiques dans sa lutte contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette. L'usage croissant du B.t.k. en forêt a donné lieu à l'élaboration de plusieurs projets de suivi environnemental. Le M.E.R. a notamment réalisé des études sur le comportement des spores viables dans différents milieux.

Ce rapport traite principalement de la distribution spatiale et temporelle des spores de B.t.k. en milieu lotique[1] après une pulvérisation aérienne. À notre connaissance, aucune recherche n'a jamais été effectuée sur ce sujet. Cette étude vise aussi à vérifier la validité de notre méthode de récolte en eau courante. Le programme d'échantillonnage s'est déroulé dans la région de la Mauricie (La Tuque) au printemps de 1986.

---

1. Milieu lotique: milieu où l'eau circule; eau courante.

1. PROGRAMME DE PULVÉRISATIONS

Le programme de pulvérisations réalisé en 1986 couvrait 51 198 hectares répartis dans les régions de la Côte-Nord, de la Mauricie et du Saguenay-Lac-Saint-Jean. Soixante-cinq pour cent de cette superficie a été traitée à l'insecticide chimique et 35% à l'insecticide biologique. En Mauricie, tous les traitements ont été effectués avec l'insecticide biologique (Figure 1). Des avions monomoteurs de types Grumman AgCat et Bull Thrush ont réalisé les pulvérisations. Le Thuricide 48LV^{MD} a été appliqué à une dose de 30 M.U.I.[1]/ha dans un volume de 2,37 litres/ha.

---

1. M.U.I.: Milliard d'unités internationales

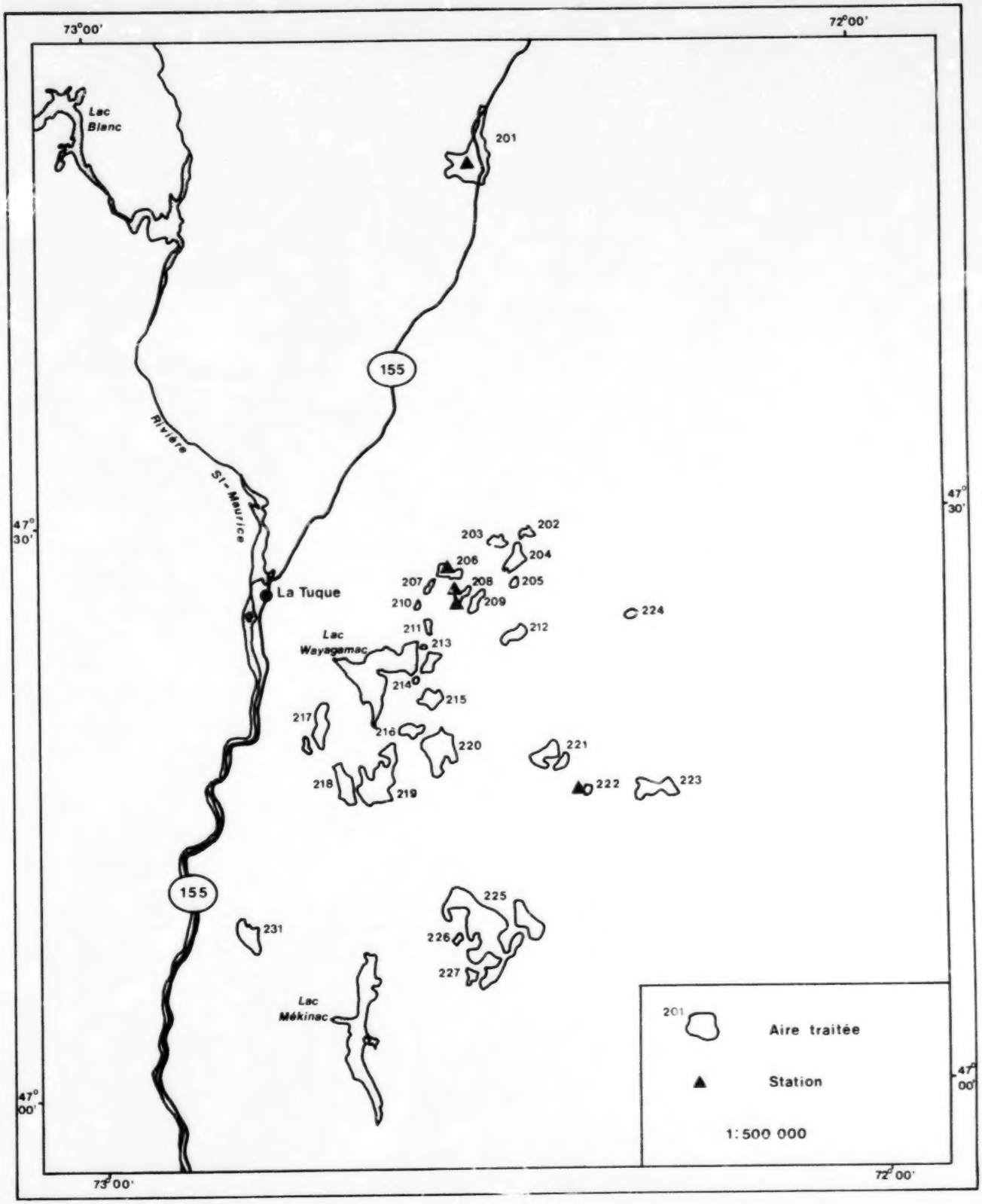

Figure 1. Programme de pulvérisations de 1986 réalisé en Mauricie et stations échantillonnées en eau courante

2. PROGRAMME D'ÉCHANTILLONNAGE

Quatre ruisseaux situés dans la région de la Tuque ont servi à la réalisation de ce projet (Figure 1). Ce sont le ruisseau Ouitouche (bloc 201) et les tributaires des lacs Vermillon (bloc 222), Saint-Rock (bloc 206) et Charest (bloc 208).

Afin de vérifier la représentativité de la méthode de récolte utilisée depuis quelques années, nous avons choisi des ruisseaux comparables à ceux échantillonnés antérieurement. Leur largeur varie de deux à quatre mètres et la vitesse du courant est en moyenne de 0,8 m/sec. Une station d'échantillonnage a été établie sur chaque cours d'eau, à l'exception d'un ruisseau où deux stations ont servi à l'étude sur la distribution spatiale. Toutes les stations d'échantillonnage se trouvaient à l'intérieur des aires traitées en 1986.

À la suite d'une même pulvérisation, les récoltes concernant la distribution spatiale et temporelle se succédaient alternativement.

3. MÉTHODOLOGIE D'ÉCHANTILLONNAGE

Avant toute manipulation, l'échantillonneur doit se laver les mains avec un savon antibactérien (Hibitane^{MD}) et les essuyer avec un chiffon imbibé d'alcool. Pour la récolte, il utilise des bouteilles en polypropylène de type Boston (946 ml) avec fermeture à vis. Une fois l'eau récoltée, le volume de chaque échantillon est ajusté à 900 ml. Les bouteilles sont ensuite mises dans des sacs de plastique et sont conservées au froid dans une glacière. Elles doivent être congelées dans un délai de douze heures.

3.1 Distribution spatiale

Pour réaliser l'échantillonnage, quatre bouteilles sont fixées sur un support en bois. Ce dispositif est ensuite enfoncé dans l'eau (0-5 cm) perpendiculairement au ruisseau. Lorsque les bouteilles sont pleines, on retire le dispositif de l'eau. Grâce à cette technique, il est possible de faire simultanément quatre prélèvements à différents endroits sur la largeur d'un même cours d'eau. On retrouve ainsi, deux bouteilles au centre du ruisseau et les deux autres de chaque côté de celles-ci, à mi-chemin entre le centre et les deux rives (Figure 2).

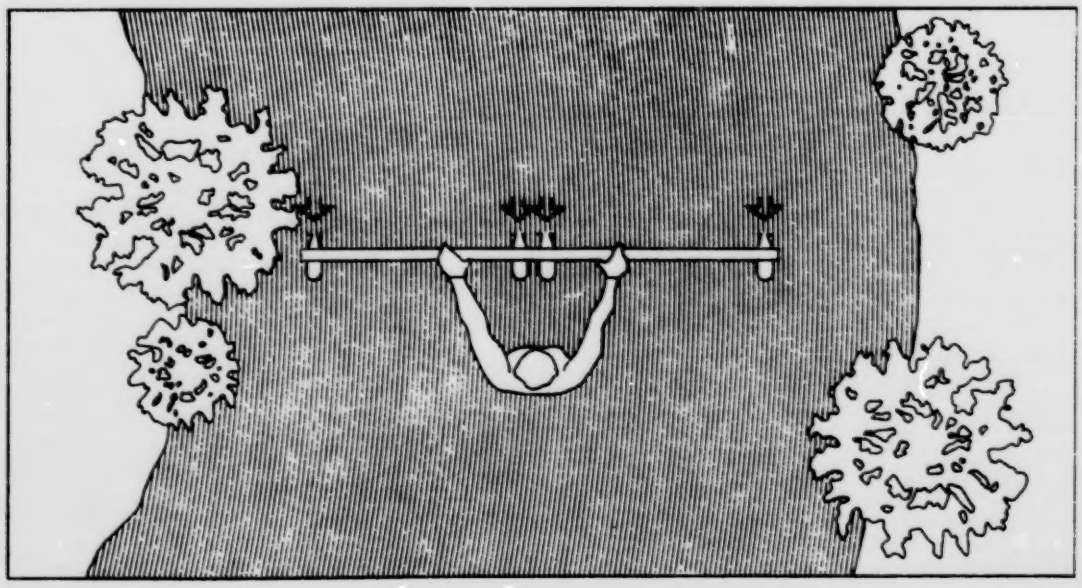

Figure 2. Récolte de quatre bouteilles d'eau fixées sur un support

Au laboratoire, l'une des bouteilles situées au centre est analysée séparément alors que le contenu des trois autres bouteilles est homogénéisé et analysé comme un seul échantillon.

La séquence des prélèvements est de 20, 30, 40, 60, 90 et 120 minutes après la pulvérisation. À chacun de ces délais, la concentration détectée dans l'échantillon simple (1 bouteille) est comparée à celle de l'échantillon multiple (3 bouteilles).

3.2 Distribution temporelle

Durant une séquence d'échantillonnage de quatre minutes, cinq bouteilles d'eau sont récoltées dans le centre du cours d'eau à une minute d'intervalle. Cette série de prélèvements est répétée à six reprises, soit à 23, 33, 43, 53, 63 et 93 minutes de la fin de la pulvérisation. La troizième bouteille récoltée lors de chaque séquence est considérée comme un échantillon et analysée comme tel. Les quatre autres bouteilles sont analysées ensemble comme un seul échantillon. Le résultat d'analyse de l'échantillon simple est comparé à celui de l'échantillon multiple (4 bouteilles) récolté lors de la même séquence.

4. MÉTHODOLOGIE D'ANALYSE

L'analyse des échantillons a été réalisée par le laboratoire de microbiologie du M.E.R. Les méthodes utilisées ont été décrites par Cardinal (1985).

Lors du décompte, les spores viables apparaissent sur le milieu de culture sous forme de colonies. Étant donné qu'une seule colonie peut provenir d'une spore ou d'un amas de spores, les concentrations de B.t.k. sont donc exprimées en nombre d'unités formant des colonies par litre (U.F.C./ℓ). La limite de détection est de $0{,}001 \times 10^4$ U.F.C./ℓ.

5. RÉSULTATS ET DISCUSSION

5.1 Distribution spatiale

Les résultats de l'analyse des échantillons simples (1 bouteille) révèlent des variations de 20 x 10^4 à 160 x 10^4 U.F.C./ℓ dans l'eau des cinq ruisseaux (Tableau 1). Ces échantillons regroupent les prélèvements répartis entre 20 et 120 minutes après la pulvérisation. Les concentrations obtenues à partir des échantillons multiples sont du même ordre. Ils varient de 16 x 10^4 à 120 x 10^4 U.F.C./ℓ. Notons que pour les deux types d'échantillons, les concentrations maximales s'observent entre 20 et 60 minutes.

Les résultats indiquent qu'il y a peu de différence entre la concentration détectée dans l'échantillon simple et celle de l'échantillon multiple correspondant. Les courbes présentées à la figure 3 illustrent bien ce fait. Ces observations tendent à démontrer que la récolte d'une seule bouteille au centre du cours d'eau est suffisante pour évaluer les concentrations de spores en surface et sur toute la largeur. Cette hypothèse est confirmée par l'application d'un test statistique non paramétrique. Le calcul du test de Wilcoxon (T=149) sur l'ensemble des données (n=30) ne révèle en effet aucune différence significative ($\alpha < 0,05$) entre la concentration détectée dans l'échantillon simple et celle de l'échantillon multiple.

Notons que cette étude ne permet pas d'évaluer la représentativité d'un échantillon récolté en bordure du ruisseau. Pour ce faire, il aurait fallu analyser séparément le contenu de cet échantillon et le comparer à celui des trois autres bouteilles.

Tableau 1. Distribution spatiale du B.t.k. (U.F.C. x 10^4/ℓ) dans l'eau de ruisseaux exposés aux pulvérisations en 1986

STATION	201-A		206-A		208-A		208-B		222-A	
DÉLAI (mn)	Échantillon simple[a]	multiple[b]	Échantillon simple	multiple	Échantillon simple	multiple	Échantillon simple	multiple	Échantillon simple	multiple
PRÉ	0,003	--	N.D.[c]	--	0,0072	--	--	--	N.D.	--
20	[100][d]	71	82	78	43	51*	91	[110]	35	51
30	66	58	78	78	62	77	[160]	[110]	20*	30
40	73	59	[100]	88	[76]	[110]	150	100	[40]	21
60	74	[74]	86	[120]	39	100	45	60	34	[54]
90	36*[e]	52	67	74	38	64	32*	75	32	36
120	51	48*	64*	60*	32*	52	32*	39*	37	16*

T de Wilcoxon (obs.) = 149 n(obs.) = 30 T α/2 = 137[f]

a. Échantillon simple: échantillon composé d'une seule bouteille .
b. Échantillon multiple: échantillon composé de trois bouteilles .
c. N.D. (non détecté) ≤ 0,001 x 10^4 U.F.C./ℓ .
d. Le chiffre encadré correspond à la concentration maximale détectée à chaque station .
e. Le chiffre suivi d'un astérisque correspond à la concentration minimale détectée à chaque station.
f. Lorsque le T(obs.) est supérieur à la valeur critique (T α/2), l'hypothèse d'équivalence entre les deux méthodes est acceptée (α ≤ 0,05).

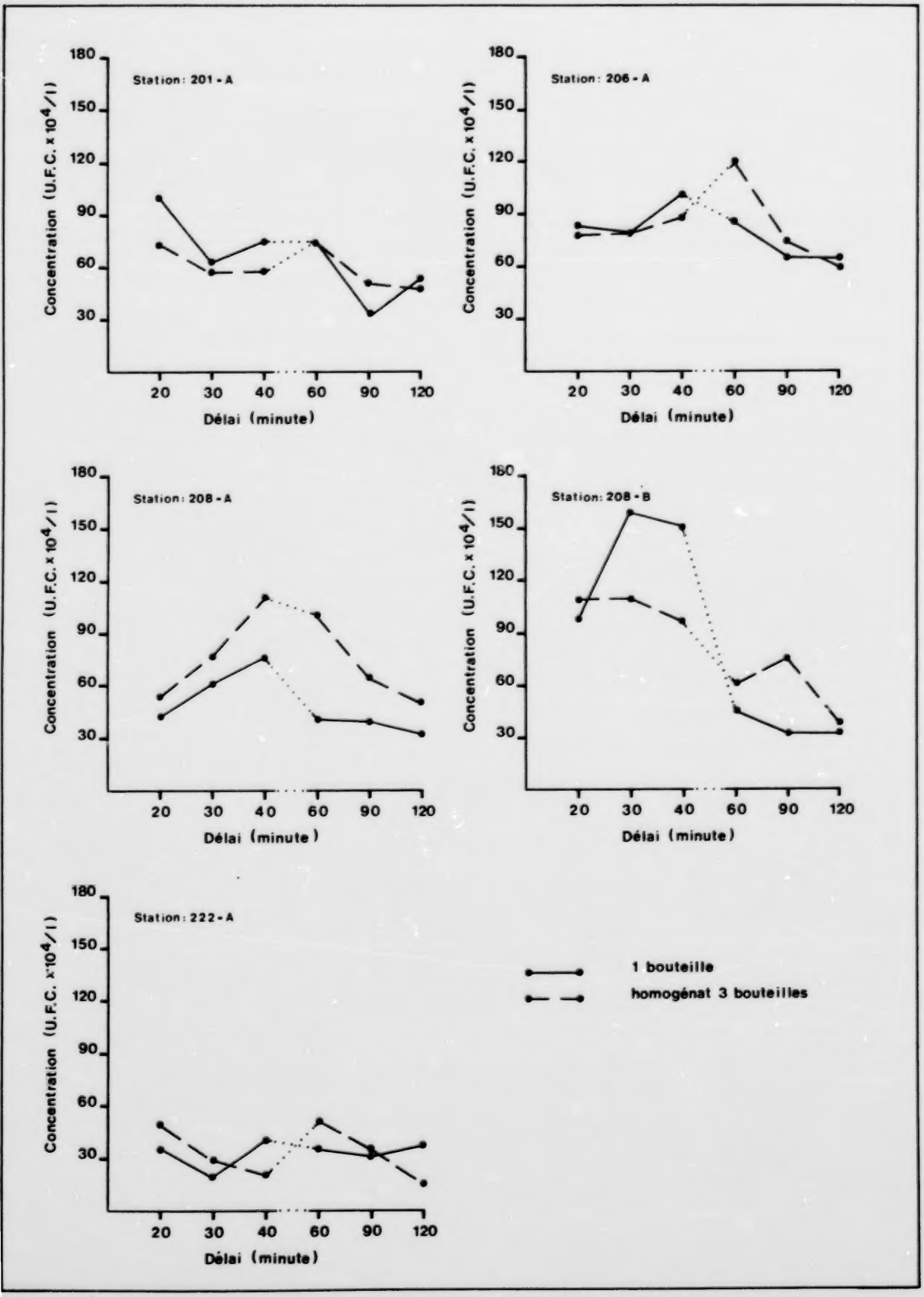

Figure 3. Distribution spatiale du B.t.k. dans l'eau de ruisseaux exposés aux pulvérisations en 1986

5.2 Distribution temporelle

Les concentrations présentées au tableau 2 varient de 11 x 10^4 à 180 x 10^4 U.F.C./ℓ pour les échantillons correspondant à une seule bouteille et de 13 x 10^4 à 130 x 10^4 U.F.C./ℓ pour les échantillons multiples. Les maximums apparaissent dans la période comprise entre 33 et 67 minutes.

De façon générale, la concentration évaluée dans l'échantillon simple (1 bouteille) est du même ordre que celle de l'échantillon multiple correspondant. Les courbes présentées à la figure 4 illustrent aussi une similarité entre les deux groupes d'échantillons. Ces résultats indiquent que la distribution des spores de B.t.k. dans l'eau des ruisseaux est relativement uniforme durant chaque séquence d'échantillonnage de quatre minutes. Le test de Wilcoxon (T=139) appliqué sur l'ensemble des données (n=24) appuie cette hypothèse. En effet, le test indique une différence non significative ($\alpha < 0,05$) entre la concentration de la troisième bouteille et celle de l'échantillon multiple.

Tableau 2. Distribution temporelle du B.t.k. (U.F.C. x 10^4/ℓ) dans l'eau de ruisseaux exposés aux pulvérisations en 1986

STATION	201-A		206-A		208-A		222-A	
DÉLAI (mn)	Échantillon simple[a]	multiple[b]	simple	multiple	simple	multiple	simple	multiple
23 - 27	86	70	85	71*	41*	69	34	31
33 - 37	72	76	78*	81	98	[110]	12	13*
43 - 47	38*[c]	72	120	110	[110]	76	11*	[64]
53 - 57	[100][d]	64	170	[130]	65	75	[35]	46
63 - 67	66	[130]	[180]	110	62	75	12	30
93 - 97	63	59*	78*	71*	45	66*	17	15

T de Wilcoxon (obs.) = 139 n(obs.) = 24 T α/2 = 81[e]

a. Échantillon simple: échantillon composé d'une seule bouteille.
b. Échantillon multiple: échantillon composé de quatre bouteilles.
c. Le chiffre suivi d'un astérisque correspond à la concentration minimale détectée à chaque station.
d. Le chiffre encadré correspond à la concentration maximale détectée à chaque station.
e. Lorsque le T(obs.) est supérieur à la valeur critique (T α/2), l'hypothèse d'équivalence entre les deux méthodes est acceptée (α ≤ 0,05).

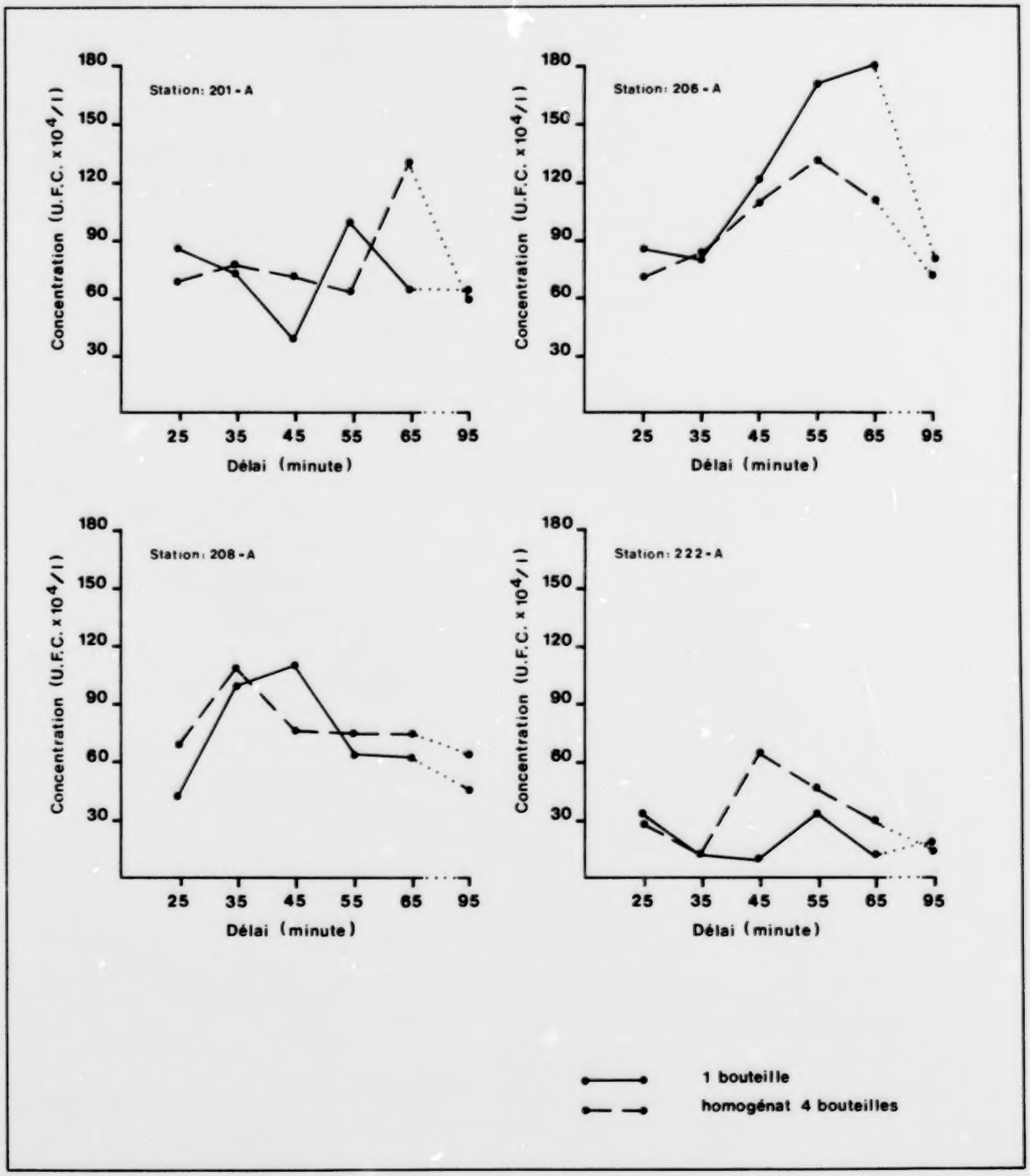

Figure 4. Distribution temporelle du B.t.k. dans l'eau de ruisseaux exposés aux pulvérisations en 1986

CONCLUSION

La distribution des spores viables de B.t.k. à la surface des cours d'eau a été vérifiée immédiatement après la pulvérisation. Les résultats démontrent que la concentration détectée dans une bouteille prélevée au centre d'un ruisseau est représentative (T de Wilcoxon) de celle d'un échantillon composé de trois bouteilles récoltées simultanément sur toute la largeur du même cours d'eau.

Par ailleurs, l'analyse statistique des échantillons récoltés durant une séquence de quatre minutes, révèle une différence non significative entre la concentration de la troisième bouteille et celle provenant des quatre autres. L'échantillon prélevé au milieu de la séquence est donc représentatif de l'ensemble des bouteilles récoltées avant ou après.

D'après ces résultats, à la suite d'une pulvérisation de B.t.k. en milieu forestier, les spores viables semblent se disperser rapidement et de façon homogène à la surface des cours d'eau. La méthode d'échantillonnage en milieu lotique, c'est-à-dire la récolte d'une seule bouteille d'eau en surface et au centre d'un ruisseau, s'avère donc adéquate pour évaluer la concentration de B.t.k. à la suite d'une pulvérisation.

BIBLIOGRAPHIE

CARDINAL, P., 1986. Cahier des méthodologies analytiques pour le Bacillus thuringiensis, Québec, Gouvernement du Québec, ministère de l'Énergie et des Ressources, Service des études environnementales, Division des études et du suivi, 29 p.

Gouvernement du Québec
Ministère de l'Énergie et des Ressources
Service des études environnementales